

## HiPure Plasmid EF Maxi Kit Plus

### 去内毒素质粒大提试剂盒（增强型）

#### 目录号

DLN703-10

#### 产品简介

本产品适合于从 100~200 mL 细菌培养液中提取 100~1500 μg 低内毒素的质粒 DNA。产品采用独特的溶液体系，可处理各种质粒载体，包括常规高中低拷贝数的载体、大型载体，如 BAC、Cosmid、P1 等。DNA 产量取决于载体拷贝数和菌液量。纯化的质粒内毒素含量低于 0.1 EU/μg，可直接用于细胞转染、动物注射等。

#### 产品组成

组分	DLN703 (10 次)	保存条件及稳定性
RNase A	20 mg	-15~-25°C 保存 18 个月
Buffer CL	30 mL	
Buffer P1	110 mL	
Buffer P2	110 mL	
Buffer NS3	110 mL	15~25°C 保存 18 个月
Buffer ER2	33 mL	
Buffer PW1	60 mL	
Buffer EWB	60 mL	
Buffer PW2	20 mL	15~25°C 保存 18 个月

01

本产品仅供研究使用，不用于临床诊断。

Eluent	20 mL
过滤器	10 个
吸附柱 MC	10 个
50 mL 收集管 C	20 个

#### 产品应用

本产品适用于从 100~200 mL 细菌培养物中提取质粒 DNA，提取产物可直接用于细胞转染、动物注射等实验。

#### 产品特点

- ◆ 低内毒素，<0.1 EU/μg 可直接用于细胞转染、动物注射等实验；
- ◆ 高产量，可结合高达 3 mg 的质粒。

#### 使用方法

##### 1. 细菌培养

- 1) 取 5~10 mL 的培养管，加入 1 mL 含抗生素的 LB 液体培养基，将含目的质粒的 *E.coli* 接种于 LB 液体培养基中，37°C 摇床培养 6~8 h，扩增菌液。
- 2) 在 0.5~1 L 培养瓶中加入 100~200 mL 含抗生素 LB 培养液，接种 0.1% 初级菌液至培养瓶中，37°C 摇床培养 12~16 h。

##### 2. 质粒提取

- 1) 收集 100~200 mL 菌液，8,000 rpm 离心 3 min，收集菌体，尽量吸除上清。
- 2) 加入 10 mL Buffer P1（请先检查是否已加入 RNase A）重悬菌体沉淀，静置 10 min。
- 3) 涡旋 5 s 重悬细菌，加入 10 mL Buffer P2 至重悬液，温和地上下翻转 6~8 次。室温静置 3 min，其间温和地上下翻转 3 次，使菌体充分裂解。

注：此步需要温和翻转，不能剧烈振荡，以免打断基因组 DNA，使提取的质粒中含有

02

本产品仅供研究使用，不用于临床诊断。

基因组 DNA 片段。混合后溶液呈均一且透亮的状态。

4) 加入 10 mL Buffer NS3 至裂解液中，立即温和地翻转 15~20 次，充分混匀（此时会出现均一的白色絮状沉淀），8,000 rpm 离心 3 min。

5) 取出过滤器的活塞，将第 4) 步离心后的上清倒入过滤器中。将过滤器的出水口对准离心管或合适大小的瓶子（自备）。将活塞插入过滤器。推动活塞使裂解液过滤到合适容器中。

注：请将上清分两次倒入过滤器中过滤，每次倒入体积不超过 23 mL。若快速取出活塞时滤膜出现松动，此时用活塞再将滤膜压回底部，再缓慢取出活塞即可。

6) 加入 0.1 倍体积 Buffer ER2 至滤液中，温和地上下翻转，静置 2~3 min。

注：若需进一步萃取去除内毒素请在加入 Buffer ER2 后冰上静置 10 min，加入 0.1 倍滤液体积的氯仿或氯仿替代物至混合液中，涡旋 10 s，8,000 rpm 离心 3 min。转移上清液至新的离心管中。

7) 加入 0.3 倍体积异丙醇至混合液或上清液中，颠倒混匀 10~15 次。

8) 将吸附柱 MC 套在收集管中，转移 2.5 mL Buffer CL（平衡液）至柱子中，静置 3 min，8,000 rpm 离心 3 min，平衡吸附柱。

9) 转移 12~15 mL 混合液（第 7) 步）至吸附柱中，8,000 rpm 离心 3 min，弃废液，将吸附柱放回空收集管。

注：吸附柱的最大容积为 15 mL，需分 3~4 次过柱。若离心机转子倾角较大，建议加入量不超过 10 mL，以防产生漏液。

10) 重复第 9) 步至混合液都转移至柱子并离心，弃废液。

11) 将吸附柱放回空收集管。加入 5 mL Buffer PW1 至吸附柱中。8,000 rpm 离心 3 min，弃废液。

12) 向吸附柱中加入 5 mL Buffer EWB，8,000 rpm 离心 3 min，弃废液。

13) 向吸附柱中加入 8 mL Buffer PW2，8,000 rpm 离心 10 min，弃废液。

14) 8,000 rpm 空离心 10 min，取出吸附柱，打开盖子，室温干燥 10 min。弃废液与收集管。

15) 将吸附柱套入新的 50 mL 收集管 C 中，在吸附膜中间部位加入 0.7~1.5 mL Eluent，静置 3 min，8,000 rpm 离心 3 min。如需较多量 DNA，可将得到的溶液重新转入吸附柱中，离心 3 min，进行二次洗脱。丢弃柱子，转移质粒溶液至干净的 2 mL 离心管中，-25~-15℃ 保存。

### 注意事项

- ◆ 首次使用前，加入约 0.5 mL Buffer P1 至 RNase A 干粉中，吸打 5~10 次让 RNase A 干粉充分溶解。然后将混合好的 RNase A 溶液全部转移至 Buffer P1 中，置于 2~8℃ 保存，保质期 6 个月；
- ◆ 当环境温度低时，Buffer P2 可能出现浑浊或析出沉淀，使用前在 37℃ 水浴加热几分钟即可恢复澄清；
- ◆ 首次使用前，向 Buffer PW2 中加入无水乙醇，加入量参考瓶上标签，混匀后方可使用，加入无水乙醇后置于 15~25℃ 保存，保质期 6 个月；
- ◆ 实验前准备  
设备：台式离心机、移液器、水浴锅；  
耗材：50 mL 离心管、1.5 mL 离心管、2 mL 离心管、LB 培养液、培养管或培养瓶。

### 保存条件

保质期 18 个月，试剂盒各组分保存条件见产品组成。常温运输。

### 技术支持

本公司产品使用过程中如有任何疑问与建议，欢迎随时与我们联系：

[product@tsingke.com.cn](mailto:product@tsingke.com.cn)

## 关联产品推荐

产品名称	货号	应用
T5 菌 P 专家	DLP102	适用于克隆鉴定与微生物模板的直接扩增实验
T 载体菌检试剂	DLP601	适用于 TA 克隆菌落鉴定实验
pClone007 通用型 TA 克隆试剂盒	DLV103	适用于平、黏末端 TA 克隆
Trelief®无缝克隆试剂盒	DLV201	适用于无缝克隆与定点突变等实验
Trelief® 5α感受态细胞	DLC101	适用于常规克隆、蓝白斑筛选等实验

## 说明书版本号

1.1.1.N703.2502

